Kurzer Leitfaden zur Rundfilter Boden Chromatographie

Danksagung

Dieser Leitfaden entstand im Rahmen der Projektreihe “UROŠ - Ubiquitous Rural Open Science Hardware” (1) - einer Kooperation des Global Hackteria Network, der Gesellschaft für mikroBIOMIK (2), Gathering for Open Science Hardware (3) und Ayllu Cooperativa (4). Der Verein Zavod Rizoma (5) hat den Forschungsstandort während der “Maribor soil week“ im Mai 2022 zur Verfügung gestellt.

UROŠ wurde im Rahmen von konS Platform for Contemporary Investigative Arts (6) finanziell unterstützt. Dies ist ein Projekt des “Network of Investigative Art and Culture Centres”, das von der Republik Slowenien und dem Europäischen Fonds für regionale Entwicklung der Europäischen Union kofinanziert wird. Die deutsche Übersetzung des Leitfadens wurde von der Zukunftsstiftung Landwirtschaft (7) finanziell unterstützt.















Links

(1) hackteria.org/wiki/UROS
(2) mikrobiomik.org/humussapiens
(3) openhardware.science
(4) instagram.com/ayllucoope
(5) zavodrizoma.si
(6) kons-platforma.org
(7) zukunftsstiftung-landwirtschaft.de

Text und Bilder

Julian Chollet
Fernando “Nano” Castro

Gestaltung & Illustration

Akvilė Paukštytė

Deutsche Übersetzung

Julian Chollet



Erstellt 12/2023

Download der digitalen Version unter archive.org oder mikrobiomik.org



Einführung

Erdboden ist eine äußerst komplexe Substanz: Mineralien, Wasser, Luft, organisches Material und eine Vielzahl von Lebewesen bilden ein dynamisches, sich selbst regulierendes System. Für die Analyse der Bodeneigenschaften können viele verschiedene Ansätze verwendet werden. Physikalische Merkmale wie Schichtung und Porenstruktur geben Aufschluss über das Wasserrückhaltevermögen und mögliche Verdichtungen. Die chemische Zusammensetzung informiert uns über den Mangel oder Reichtum an bestimmten Mineralien und die biologische Vielfalt erlaubt Rückschlüsse auf die Funktion des Nahrungsnetzes im Boden.

Die Rundfilterchromatographie von Bodenextrakten ist eine Analysemethode, die Mitte des 20. Jahrhunderts entwickelt wurde (Vorläufer bereits 1850) und nach wie vor von biodynamischen Landwirten auf der ganzen Welt angewendet wird. Die Methode folgt einem strengen Protokoll und führt zu sehr gut reproduzierbaren Ergebnissen - ihre wissenschaftliche Aussagekraft ist dennoch umstritten. Ähnlich wie bei anderen qualitativen Ansätzen ist ein gewissen Maß an Erfahrung notwendig, um gute Ergebnisse zu erzielen. Mit etwas Übung ist es jedoch möglich, Einblicke zu erhalten, die weit über die klassischen chemischen Analysen hinausgehen.

Aufgrund der einfachen Durchführung und dem ästhetischen Wert der Chromatogramme, eignet sich die Rundfilterchromatographie außerdem hervorragend für die Bildungsarbeit. Landwirten, Gärtnern und interessierten Laien kann auf diese Weise der Boden ein Stück näher gebracht werden – immerhin hängt unser aller Leben von ihm ab.

Literatur

Pfeiffer (1959); **“Eine qualitativ chromatographische Methode zur Bestimmung biologischer Werte. I. Unterschiede von Humus- und Kompostqualität“**; Lebendige Erde. Nr. 5

Hassild-Piezunka (2003) **“Eignung des Chroma-Boden-Tests zur Bestimmung von Kompostqualität und Rottegrad“**; Doktorarbeit, Carl-von-Ossietzky Universität Oldenburg

Brinton (2010) **“Assessing Compost & Humus Condition by Circular Chromatography”**; Journal of the woods end research Lab, Vol 1:1

Restrepo & Pinheiro (2011) **“Cromatografía - Imágenes de vida y destrucción del suelo”**; Fundação Juquira Candiru Satyagraha

Kokornaczyk, Primavera, Luneia, Baumgartner & Betti. (2017) **“Analysis of soils by means of Pfeiffer’s circular chromatography test and comparison to chemical analysis results”**; Biological Agriculture & Horticulture, Volume 33

Ford, Cook, Tunbridge, Tilbrook (2019) **“Using paper chromatography for assessing soil health in southwestern Australia”**; Centre of Excellence in Natural Resource Management, University of Western Australia

Ford, Stewart, Tunbridge, Tilbrook, (2021) **“Paper chromatography: An inconsistent tool for assessing soil health”**; Geoderma, Volume 383

Beispiel
Landwirtschaftliche Böden



Nicht kultivierter Boden



Konventioneller Weinbau



Regenerativer Weinbau

Die drei Bilder zeigen die Chromatogramme von Proben, die in unmittelbarer Nähe voneinander in der Weinbauregion Mendoza (Argentinien) entnommen wurden. Das erste repräsentiert einen nicht kultivierten Boden; das zweite einen konventionellen Weinbaubetrieb, der chemische Düngemittel und Pestizide verwendet; das dritte einen “regenerativen” ökologischen Weinbaubetrieb drei, Jahre nach der Umstellung.

Die Probe des nicht kultivierten Bodens zeigt eine sehr helle zentrale Zone, deutlich getrennte konzentrische Ringe und einen leicht unscharfen äußeren Rand. Die Probe aus dem konventionellen Weinbaubetrieb zeigt ebenfalls eine klare Trennung der Zonen, einen noch unschärferen Rand, aber eine viel dunklere Färbung, insbesondere in der zentralen Zone. Das Chroma des regenerativen Weinbaubetriebs unterscheidet sich deutlich von den ersten beiden, da es eher unscharfe Zonengrenzen und einen definierten Außenbereich mit dunklem Rand aufweist. Keines der Chromas zeigt radiale Merkmale.

Die Hauptunterschiede zwischen den 3 Chromas sind:
1) Färbung; 2) Zonentrennung; 3) äußerer Rand.

1) Dunkelbraune Farben werden meist mit dem Humusgehalt in Verbindung gebracht. Die Böden aus beiden Weinbaubetrieben weisen eine höhere Menge an organischen Verbindungen auf als der nicht bewirtschaftete Boden, aber ihre Verteilung ist unterschiedlich. In der Probe der regenerativen Betriebs scheinen bestimmte große organische Moleküle zu fehlen (heller Fleck in der zentralen Zone), während sie eine größere Menge kleiner organischer Moleküle aufweist (sehr dunkle äußere Zonen).
2) Wir konnten keine schlüssige Erklärung für die unscharfen Zonengrenzen in der Probe des regenerativen Betriebs finden. Es könnte spekuliert werden, dass ein komplexes Boden-Nahrungsnetz eine große Vielfalt an organischen Verbindungen erzeugt, die dann zu einem diffusen Erscheinungsbild auf dem Chroma führen, aber wir haben keine Belege für diese Idee.
3) Ein ausgeprägter äußerer Rand wird oft als Zeichen für eine hohe Bodenfruchtbarkeit angesehen. Er wird mit starker mikrobieller Aktivität und dem Vorhandensein kleiner organischer Moleküle in Verbindung gebracht.

Prinzip

Flüssigkeiten werden mittels Kapillarkräften durch ein Filterpapier gesaugt. Die einzelnen Bestandteile gemischter Proben “wandern” je nach ihrer Größe und ihren physikalischen/chemischen Eigenschaften schneller oder langsamer. Diese spezielle Art der Trennung wird als Chromatographie bezeichnet.

Bei der Rundfilterchromatographie werden die Extrakte mit Natriumhydroxid (NaOH) hergestellt, einer Substanz, die häufig zur Extraktion organischer Stoffe verwendet wird. NaOH bricht lange und komplexe Moleküle auseinander, macht sie kleiner und mobiler. Vor dem Auftragen der Bodenextrakte werden die Filterpapiere mit einer stark verdünnten Lösung aus Silbernitrat ($AgNO_3$) getränkt, das für seine extreme Lichtempfindlichkeit bekannt ist. Einige Bodenbestandteile entwickeln charakteristische Farben, wenn sie mit Silbernitrat reagieren. Während der Trennung auf dem Filterpapier werden außerdem spezifische Muster gebildet.

Ähnliche Substanzen erzeugen ähnliche charakteristische Muster und Farben. Dies führt dazu, dass Bodenproben aus den degradierten Böden der “konventionellen” industriellen Landwirtschaft einander ähnlich sind, sich aber stark von reichen organischen Böden oder Komposten unterscheiden.

In den letzten Jahrzehnten wurde versucht, die Ergebnisse der Rundfilterchromatographie zu quantifizieren und zu objektivieren. Trotz interessanter Ergebnisse liegt die Stärke der Methode womöglich gerade in ihrer subjektiven Natur.

Werkzeuge

Hohe Präzision ist nicht erforderlich, wenn das $AgNO_3$ als Lösung vorliegt.

- Waage (mindestens 0,1 g Genauigkeit)
- Messglas (~50-100 ml)
- Glasgefäße (mindestens 100 ml)
- Petrischalen, Deckel von Einmachgläsern Oder etwas ähnliches.
- Pipette (~2-10 ml)
- Gummihandschuhe
- Schere

Materialien (für 20 Proben)

- Silbernitrat ($AgNO_3$) → 0,2 g
- Natriumhydroxid (NaOH) → 10 g
- destilliertes Wasser → ~1.5 l
- 22 Filterpapiere (15 cm Durchmesser)

2 davon werden für die "Dochte" verwendet (siehe Schritt 3).

Plane im Voraus:
$AgNO_3$ und geeignete Filterpapiere können 1-2 Wochen Lieferzeit haben.
Die anderen Materialien sind in der Regel in jedem Drogeriemarkt erhältlich.

Filterpapiere: Wir haben gute Erfahrungen mit Retentionsraten von 5-8 µm gemacht - je kleiner diese Zahl ist, desto definierter ist das Chroma, jedoch verlängert sich die Laufzeit und es kann Probleme mit Proben geben, die einen hohen Anteil an organischen Verbindungen aufweisen.

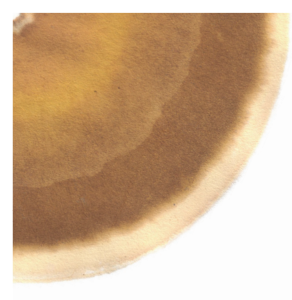
Arbeitsablauf

Wenn Du zum ersten Mal eine Chromatographie durchführst, beginne mit wenigen Proben und nimm Dir Zeit, den Arbeitsablauf an Deine örtlichen Gegebenheiten anzupassen. Probiere verschiedene Bodenarten aus, um die Vielfalt der Formen und Farben kennenzulernen und vergleiche dieselbe Probe in unterschiedlichen Verdünnungen. Beobachte sorgfältig und übe den Umgang mit dem Material. Wenn Du für einen systematischen Ansatz bereit bist, formuliere eine präzise Forschungsfrage: z.B. „Gibt es Unterschiede zwischen dem mit Mulch bedeckten Teil Deines Gartens und dem unbedeckten Bereich?"

Empfehlungen:
- Erstelle einen Zeitplan für die Probenentnahme und Vorbereitung des Filterpapiers.
- Finde einen Ort, um eine Dunkelkammer zu improvisieren (siehe Schritt 3).
- Entnehme mindestens 2 Proben von jedem Standort, den Du untersuchen möchtest.
- Erstelle ein "leeres" Chroma mit reiner Extraktionslösung (1% NaOH).
- Sei äußerst genau bei der Vorbereitung und behandle alle Proben exakt gleich.

Beispiel
Sand vs. Erde

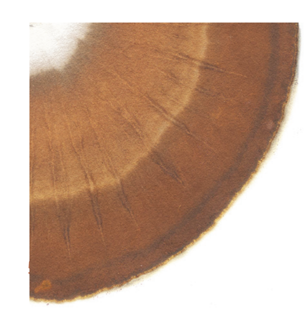
Die Bewertung der Bodenqualität ist ein hochkomplexes Problem und die zirkuläre Chromatographie kann sich als hilfreich erweisen, bestimmte Aspekte zu verstehen. Da wir jedoch (noch) keine Experten für diese Technik sind, wollen wir nicht behaupten, dass die folgenden Interpretationen korrekt sind. Wir empfehlen grundsätzlich eine Kombination mehrerer Methoden, einschließlich visueller und haptischer (z. B. beschrieben von Graham Shepherd) sowie mikrobiologischer Ansätze (siehe auch unseren "Kurzen Leitfaden zur Bodenmikroskopie").



100% Sand



75% Sand / 25% Erde



50% Sand / 50% Erde

Die 3 Bilder zeigen, wie die Chromatographie auf verschiedene Verhältnisse von Sand und Erde reagiert. Für das Experiment verwendeten wir Sand von einer Baustelle und humusreiche, dunkelbraune Erde aus einem gemulchten Beet. Die Ergebnisse sind gut reproduzierbar und stimmen mit unseren früheren Erfahrungen hinsichtlich der Farbsättigung und Zonenbildung in Böden mit unterschiedlichem Humusgehalt überein.

Die Chromatographie ist sehr empfindlich: Mit 50 % Erde (2,5 g + 2,5 g Sand) ist das Chroma bereits vollständig gesättigt. Eine weitere Erhöhung der Konzentration führt zu keiner Veränderung der Farbe, der Zonen oder der radialen Merkmale (Bilder nicht gezeigt). Die Proben mit reinem Sand sind blass, zeigen einen Farbverlauf anstelle von Zonen und haben einen unscharfen Rand. Laut Literatur ist dies auf den sehr geringen Gehalt an organischen Verbindungen und die schwache mikrobielle Aktivität zurückzuführen. Selbst kleine Mengen Gartenerde führen zu einer klaren Trennung der Zonengrenzen, einem definierten Rand ohne Spitzen und starken radialen Merkmalen ("Kanälen"), die fast alle Zonen durchdringen. Neben der Farbintensität gibt es zwei Hauptunterschiede zwischen 25 % und 50 % Gartenerde:
1) der dünne helle Bereich am äußeren Rand des Chromas ist nur in den niedrigeren Konzentrationen sichtbar;
2) bei höherer Konzentration gibt es weniger Kanäle, diese sind jedoch breiter und verlaufen bis in die zentrale Zone.

Wir schließen aus diesen Experimenten, dass die optimale Verdünnung für die Chromatographie für jeden Satz an Proben individuell bestimmt werden muss. Andernfalls kann es passieren, dass wichtige Unterschiede aufgrund von Sättigung oder anderen konzentrationsabhängigen Effekten bei der Musterbildung verloren gehen.

Interpretation & Bewertung

Ein Bild sagt mehr als tausend Zahlen

Chromatogramme sind einzigartige, wunderschöne Bilder, die in gewisser Weise den Charakter der Böden offenbaren, von denen sie stammen. Wir schätzen diese Methode, da sie einfach genug ist, um sowohl zuhause als auch während eines Workshops durchgeführt zu werden. Außerdem ermöglicht sie uns, einige Eigenschaften der Bodenproben auf ein Stück Papier zu übertragen, welches wir dann bewundern, teilen und (z.B. an der Kühlschranktüre) archivieren können. Das Wichtigste dabei ist, dass das Bild nicht von uns selbst erzeugt wird, sondern von den Bestandteilen des Bodens und von den Milliarden von Mikroorganismen, die ihn bewohnen. Die Muster und Farben ergeben sich direkt aus dem lebenden System des Bodens - wir können lediglich bei ihrer Manifestation und Entwicklung helfen.

Im Rahmen der biologisch-dynamischen Landwirtschaft wird die Rundfilterchromatographie nicht nur als zuverlässige Methode der Bodenanalyse betrachtet, sondern auch im Kontext seiner “energetischen” Eigenschaften interpretiert. Auf den folgenden Seiten gehen wir nicht auf diese Art des Lesens eines Chromatogramms ein, sondern möchten die Erkenntnisse aus zwei unserer Experimente mit Euch teilen. Für weitere Informationen zur Interpretation der Ergebnisse empfehlen wir wissenschaftliche Veröffentlichungen (siehe “Literatur”) und/oder den Kontakt zu einem lokalen Verein für biologisch-dynamische Landwirtschaft.

Ein Chromatogramm wird meist in 3-5 konzentrische Ringe (Zonen) eingeteilt. Außerdem können einige andere Merkmale identifiziert werden, z.B. radial verlaufende Spitzen und Kanäle. Die Größe und Färbung der Zonen sowie ihre Beziehung zu den radialen Merkmalen erlauben eine Charakterisierung der Proben. Aus den Chromatogrammen kann beispielsweise der Reifegrad von Kompost abgeleitet werden [Hassild-Piezunka; Brinton], ob industrielle Praktiken eingesetzt werden oder die Wirkung von Kompost auf die Bodenzusammensetzung [Restrepo & Pinheiro]. Für die Interpretation eines Chromas ist jedoch ein gewisses Maß an Erfahrung sowie Kenntnisse über die Chemie und Physik der betreffenden Prozesse erforderlich. Vor allem aber müssen wir unser Wissen über die Proben mit einbeziehen, ihren Geruch, ihre Beschaffenheit und ihre Geschichte: Woher stammen sie? Was wurde angebaut? Wie wurde der Boden im Laufe der Jahre behandelt?

SCHRITT 1 – Vorbereiten der Lösungen

0.5 % $AgNO_3$ Lösung

z. B. 0,5 g $AgNO_3$ in 100 ml destilliertem Wasser

Minimiere die Lichtexposition beim Umgang mit $AgNO_3$. $AgNO_3$ ist ein starker Farbstoff und kann Hautreizungen verursachen.

Du benötigst 2 ml pro Chroma, das reicht also für etwa 50 Chromas. Lagere die Lösung im Dunkeln.

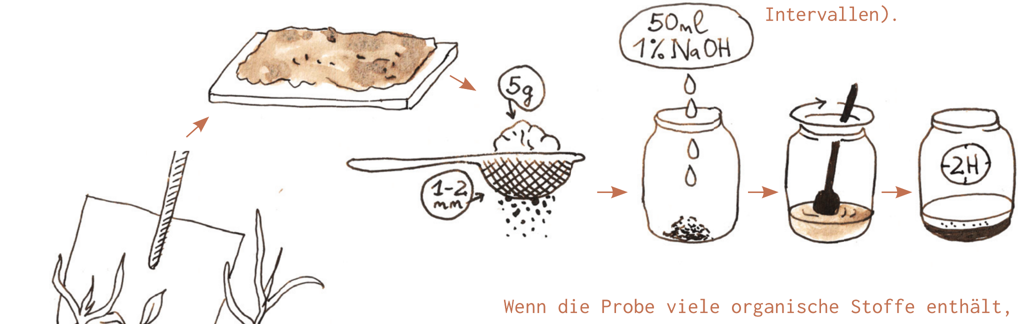
1 % NaOH-Lösung

z. B. 10 g NaOH in 1 l destilliertem Wasser

Du benötigst 50 ml pro Chroma, das ist also genug für 20 Chromas. Keine besonderen Lagerbedingungen.

SCHRITT 2 – Herstellung von Bodenextrakten

- Sammle eine Handvoll Erde ohne Steine, Wurzeln oder Pflanzen.
- Wenn Du verschiedene Standorte vergleichen möchtest, entnehme jeweils mindestens 2 Proben.
- Breite die Erde auf einem Tisch, einem Karton o.ä. aus und lass sie dort trocknen. (Im Schatten.)
- Streiche 5 g trockene Erde durch ein Sieb mit 1-2 mm Löchern. → Manche Protokolle verwenden 10 g, aber wir hatten mit 5 g bessere Ergebnisse.
- Vermische die Erde mit 50 ml 1% NaOH-Lösung.
- Rühre oder schüttle die Lösung in den nächsten 2-3 Stunden mehrmals sanft. → z.B. zu Beginn, nach 15 Minuten, nach 1 Stunde, nach 2 Stunden (immer mit denselben Intervallen).
- Lass die Probe vor der Chromatographie für 2 Stunden setzen/sedimentieren.



Wenn die Probe viele organische Stoffe enthält, kann es länger dauern, bis sie sich setzt. Am besten findet die Sedimentation in Deiner “Dunkelkammer” statt, damit Du die Proben für die Chromatographie nicht erneut bewegen musst.

SCHRITT 3 –
Einweichen des Filterpapiers mit $AgNO_3$

❋ Dieser Schritt sollte mit Handschuhen und in relativer Dunkelheit durchgeführt werden. ◐

❋ $AgNO_3$ ist ein starker Farbstoff und kann Hautreizungen verursachen.

❋ Halte die Filterpapiere sauber.

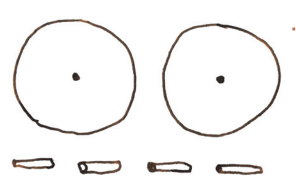
· **Improvisiere eine Dunkelkammer**

Ziehe die Vorhänge zu, hänge ein paar Decken auf – je dunkler, desto besser. Du kannst auch den Sonnenuntergang abwarten. Verwende rote Taschenlampen oder eine andere Lichtquelle mit geringer Intensität.



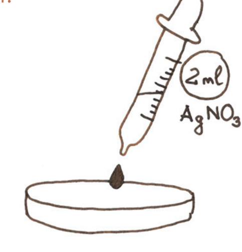
· **Mache in der Mitte der Filterpapiere ein Loch**

Um die Mitte zu finden, falte ein Papier zweimal, ohne es zu knicken (siehe Zeichnung!) und markiere den Mittelpunkt. Dann kannst Du die Filter stapeln und mit einer Schere oder einem Messer ein Loch durch alle Filter gleichzeitig stanzen. Erweitere das Loch behutsam auf eine Größe von 3-5 mm.

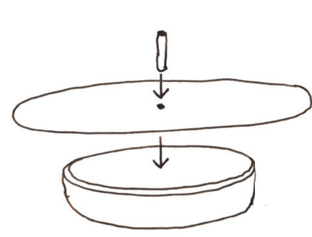


· **Stelle doppelt so viele Dochte her, wie Du Filter hast (Du brauchst sie für Schritt 4).**

Schneide das Filterpapier in Quadrate von ca. 2 x 2 cm und rolle diese zu Zylindern.



· **Pipettiere 2 ml der $AgNO_3$-Lösung auf die Petrischale/Deckel.**

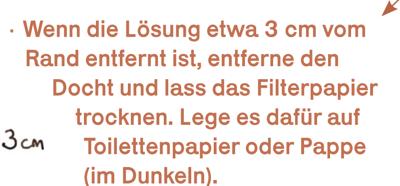


· **Stecke einen Docht in das Loch des Filterpapiers und leg ihn auf die Schale.**

Achte darauf, dass der Docht die Lösung berührt.

· **Wiederhole diesen Vorgang für alle Filterpapiere.**

Du kannst alle gleichzeitig verarbeiten – je nach Papier dauert das Einweichen 20-30 Minuten.



· **Wenn die Lösung etwa 3 cm vom Rand entfernt ist, entferne den Docht und lass das Filterpapier trocknen. Lege es dafür auf Toilettenpapier oder Pappe (im Dunkeln).**

SCHRITT 4 –
Einweichen des Filterpapiers mit Deinen Bodenextrakten

❋ dieser Schritt sollte mit Handschuhen und in relativer Dunkelheit durchgeführt werden. ◐

· **Markiere den Rand der mit $AgNO_3$ getränkten Filterpapiere mit dem Namen/Nummer der Probe.**

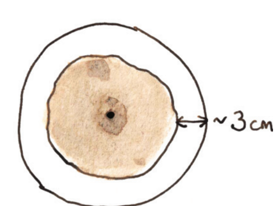
· **Reinige die Petrischalen/Deckel und verwende frische Dochte.**

· **Pipettiere vorsichtig 2 ml des Überstands (Flüssigkeit über der sedimentierten Erde) auf die Petrischale/Deckel.**

· **Wiederhole den Vorgang wie beim Einweichen mit $AgNO_3$.**

· **Beende die Chromatographie, wenn die Lösung etwa 3 cm vom Rand entfernt ist oder wenn sich das Bild nicht mehr verändert.**

Je nach Probe und Papier kann das bis zu 1 Stunde dauern.





· **Lass die Chromatogramme trocknen und setze sie dann für 2-3 Stunden dem indirekten Sonnenlicht aus.**

Für höhere Reproduzierbarkeit kannst Du künstliches Licht in einer abgedunkelten Umgebung verwenden.

Fehlersuche

· **Falls die Lösung weniger als etwa die Hälfte des Weges bis zum Rand zurücklegt, solltest Du für Deine nächsten Versuche eine höhere Verdünnung und/oder eine längere Sedimentationszeit in Betracht ziehen.**

· **Wenn alle Chromatogramme blass und ohne klare Muster erscheinen, versuch es mit einer höheren Konzentration an Erde (z. B. 10 g).**